

· 论 著 ·

P53 蛋白、VEGF 和 CD34 在涎腺腺样囊性癌中的表达及意义

胡翰青¹, 刘 蔚¹, 马行健¹, 李明达¹, 陈 昶¹, 卢晓鹂²

[摘要] 目的 研究 P53 蛋白、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及微血管密度(microvessel density, MVD)在涎腺腺样囊性癌(salivar adenoid cystic carcinoma, SACC)中的表达,探讨其与 SACC 临床侵袭、转移等生物学行为的关系。**方法** 应用常规免疫组化法,分别检测 SACC、腮腺多形性腺瘤(pleomorphic adenoma, PA)及正常腮腺组织(normal salivary gland, SG)各 16 例中 P53 蛋白和 VEGF 的表达以及 MVD 计数(CD34 标记),并进行统计分析。**结果** SG、PA、SACC 三组中的 P53 蛋白和 VEGF 的阳性表达率, MVD 计数依序增加,各组间比较差异显著($P < 0.05$); SACC 组中随着 P53 蛋白表达的增高, MVD 也随之增加,呈显著正相关($r = 0.55$);同时 P53 阳性表达率和 MVD 计数随着 VEGF 表达程度的增高亦显著增加。**结论** P53 蛋白、VEGF 和 CD34 的表达与 SACC 的血管生成及发生、发展关系密切。

[关键词] 涎腺腺样囊性癌; P53 蛋白; 血管内皮生长因子; 微血管密度

[中图分类号] R739.8 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2013.06.012

Expression and clinical significance of P53 protein, VEGF and CD34 in human salivar adenoid cystic carcinoma

HU Han-qing¹, LIU Wei¹, MA Xing-jian¹, LI Ming-da¹, CHEN Chang¹, LU Xiao-li². 1. Department of Stomatology, 94 Hospital of PLA, Nanchang, Jiangxi 330002, China; 2. Nanchang University Affiliated Stomatology Hospital, Nanchang, Jiangxi 330006, China

[Abstract] **Objective** To study the expression of P53 protein, vascular endothelial growth factor (VEGF) and Microvessel density (MVD), and discuss with the clinical biological behavior of invasion and metastasis of SACC. **Methods** SP immunocytochemistry staining was applied to detect the expression of P53 protein and VEGF. MVD was counted by CD34 antibody in 16 cases of SACC, PA and SG respectively. The data were analyzed by SPSS19.0 software package. **Results** Positive expression rate of P53 protein and VEGF increased in SG, PA and SACC, and so did the MVD count ($P < 0.05$). There was a significant positive correlation between P53 protein and MVD expression in the SACC group ($r = 0.55$). The same results were found between VEGF and P53, P53 and MVD. **Conclusion** The expression of P53 protein, VEGF and MVD plays an important role in the angiogenesis, formation and development of SACC.

[Key words] salivar adenoid cystic carcinoma; P53 protein; vascular endothelial growth factor; microvessel density

涎腺腺样囊性癌(salivar adenoid cystic carcinoma, SACC)是一种常见的涎腺恶性肿瘤,预后差,组织病理学相对复杂。本文对 P53 蛋白、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和 CD34 标记的微血管密度(microvessel density, MVD)在 SACC、腮腺多形性腺瘤(pleomorphic adenoma, PA)及正常腮腺组织(normal salivary gland, SG)中的表达进行检测,探讨 P53 蛋白、VEGF 和 MVD (CD34 标记)在 SACC 中的表达及意义,研究其与临床侵袭、转移等生物学行为的关系。

1 材料与方法

1.1 组织标本来源 收集南昌大学附属口腔医院及解放军 94 医院 2005 - 2012 年术后病理确诊为

SACC 的病例 16 例,其中男 7 例,女 9 例;年龄 24 ~ 68 岁,平均 42.3 岁;发生于腮腺 14 例,颌下腺 2 例;SACC 中有淋巴结转移 9 例,无淋巴结转移 7 例。患者术前均未做任何放化疗。另随机选取 PA 及 SG 各 16 例做对照组。各组年龄与性别等一般资料比较无差异($P > 0.05$)。

1.2 主要试剂 VEGF 兔抗人多克隆抗体、P53 鼠抗人单克隆抗体、CD34 鼠抗人单克隆抗体及相关试剂均购于长春汇力生物技术有限公司。

1.3 方法 石蜡包埋后切片,免疫组化法(SP 法)染色检测 P53、VEGF 和 CD34。以 PBS 代替一抗作阴性对照,采用乳腺癌组织切片作阳性对照。

1.4 结果判断 P53 阳性细胞:细胞核呈棕黄色; VEGF 阳性细胞:细胞质或胞浆内有棕褐色颗粒。选取 200 倍镜下 8 个视野随机计数,计算 200 个细胞中的阳性细胞百分率。染色强度评分参照“全国免疫组织化学技术与诊断标准化专题研讨会”标准。MVD 测定:参照 Weidner^[1]法进行并判定。

作者单位: 1. 330002 江西南昌,解放军 94 医院口腔科; 2. 330006 江西南昌,南昌大学附属口腔医院

通讯作者: 刘 蔚, E-mail: 361276038@qq.com; 卢晓鹂, E-mail: 495741449@qq.com

1.5 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差检验;计数资料以百分率 (%) 表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。双变量间采用 Spearman 等级相关检验计算相关系数。

2 结 果

2.1 P53 表达 16 例 SACC 中 P53 染色阳性表达率为 68.8% (11/16),腺体大导管、分泌管及血管中均有阳性细胞表达,其中 4 例弱阳性表达,7 例强阳性表达(图 1);P53 在 SACC、PA 和 SG 中的表达有显著差异($P < 0.05$,表 1)。

2.2 VEGF 表达 16 例 SACC 中 VEGF 染色阳性表达率为 81.3% (13/16),其中 3 例呈弱阳性表达,10 例呈强阳性表达(图 2);VEGF 在 SACC、PA 及 SG 中阳性表达率组间比较有显著差异($P < 0.05$,表 1)。

2.3 MVD 记数 SACC 中肿瘤细胞集中区、筛孔及周边、腺体小导管等区域均出现棕黄色血管单个内皮细胞或内皮细胞簇,CD34 染色呈阳性表达(图 3);PA 中在大导管及分泌管周围发现阳性细胞;SG 中在少数血管区出现数个棕黄色内皮细胞,呈弱阳性。SACC、PA 及 SG 组的 MVD 值组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。另在 SACC 或 PA 中,微血管密度均由肿瘤边缘向肿瘤内部逐渐减低。

2.4 P53、VEGF、MVD 在 SACC 中的相互关系 经 Spearman 等级相关检验 P53 与 VEGF,VEGF 与

MVD 及 P53 与 MVD 在 SACC 中表达的相关系数(*r*)分别为 0.66、0.62 及 0.55,均呈显著正相关(P 均 < 0.05)。

3 讨 论

肿瘤的生长依赖新生血管的形成,血管内皮细胞通过增殖、迁移等一系列过程最终分化为管状样结构。CD34 能特异性标记血管内皮细胞,识别内皮细胞分化^[2-3]。本研究运用 CD34 标记涎腺良恶性肿瘤中的微血管,研究显示微血管密度均由涎腺肿瘤边缘向肿瘤内部逐渐减低。PA 以低密度 MVD 为主,SACC 多数呈高密度 MVD 表达,而 SG 中 MVD 密度最低。此结果符合肿瘤恶性程度越高,MVD 表达越高的相关研究,显示 CD34 可用于显示肿瘤的分化、转移和浸润,并可作为预后判断的标准之一。

VEGF 是促血管形成的细胞因子,许多肿瘤组织中 VEGF 及其受体呈高表达,与肿瘤转移,预后关系密切^[4-7]。本实验中 VEGF 在各组中表现出不同程度的表达率,在 SACC 与 PA 中 VEGF 的表达显著高于 SG($P < 0.05$)。在肿瘤位置分布上,实验显示 VEGF 的阳性表达由肿瘤边缘部分向中心部分逐渐下降且下降幅度较大,表明肿瘤边缘瘤细胞生长活跃,能诱导更多的新生血管形成,同时显示 VEGF 与肿瘤浸润性生长的关系也符合肿瘤的生长特性。本实验显示 SACC 组中,VEGF 的表达水平与 MVD 值呈显著正相关(*r* 为 0.62),VEGF 的高表达和 MVD 增大均为肿瘤活跃的参考标志,与 SACC 生长,侵袭及转移有较密切的关系。

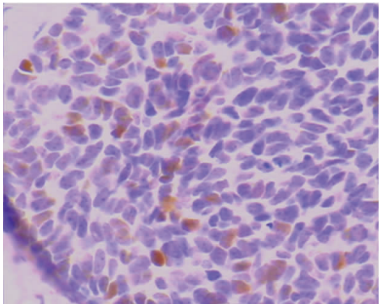


图 1 SACC 中 P53 阳性表达(SP×400)

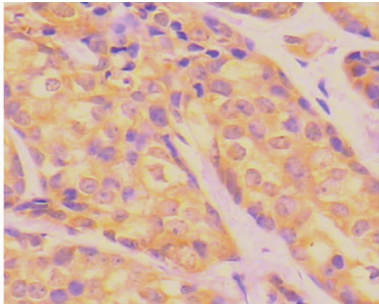


图 2 SACC 中 VEGF 表达(SP×400)

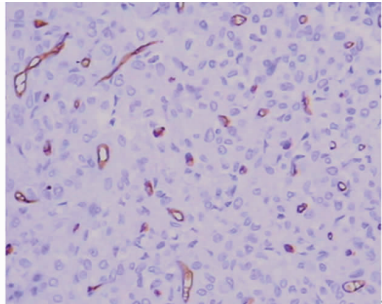


图 3 SACC 中 CD34 标记微血管(SP×200)

表 1 SACC、PA 及 SG 中 P53、VEGF 的表达及 MVD 计数

组别	<i>n</i>	P53 表达				VEGF 表达				VD 计数 ($\bar{x} \pm s$)
		-	+	++	阳性[<i>n</i> (%)]	-	+	++	阳性[<i>n</i> (%)]	
SACC 组	16	5	4	7	11(68.8)	3	3	10	13(81.3)	23.71 ± 9.24
PA 组	16	9	5	2	7(43.8)	5	6	5	11(68.8)	16.32 ± 6.18
SG 组	16	12	4	0	4(25.0)	13	3	0	3(18.8)	9.12 ± 6.05

免疫球蛋白在体液免疫中起主要作用。B 淋巴细胞受抗原刺激后,在 $CD4^+T$ 淋巴细胞的辅助下分化增殖,合成并分泌免疫球蛋白。B 细胞首先合成免疫球蛋白 M,然后在 $CD4^+T$ 的作用和其他因素影响下,转变为合成 IgA、IgG、IgM 的 B 细胞,从而合成相应的球蛋白。本文高铅组 IgA、IgG、IgM 水平显著低于低铅组 ($P < 0.05$),说明铅对其有一定抑制作用。高血铅对人体体液免疫功能有一定的影响,与闵秀全等^[6] 研究结果相似。该作用可能与铅对 $CD4^+T$ 淋巴细胞的损伤有关, $CD4^+T$ 淋巴细胞的减少,可能导致相关细胞因子分泌下降,从而抑制 B 淋巴细胞的增殖、分化,导致抗体产生及类型转换减少。高血铅对免疫功能的影响的机制远比想象的更复杂,其作用机理应从分子水平上有待进一步研究^[7-8]。

总之,环境铅污染随着工业的发展永恒存在,尽管已经采取了许多措施,但铅的危害依然,尤其是接触低剂量的慢性损害。为此,预防铅毒性任重而道远,特别是学龄前儿童。

【参考文献】

- [1] 匡晓宁,雷 洁,古桂雄. 铅对新生大鼠生长发育的影响[J]. 东南国防医药,2007,9(4):283-285.
- [2] 赵劲松,周天杰. 浅谈我国儿童铅中毒现状及防治措施[J]. 现代预防医学,2003,30(4):548-549.
- [3] Canfield RL, Henderson CR, Cory-Slechta DA, et al. Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 microg per deciliter [J]. N Engl J Med, 2003, 348 (16): 1517-1526.
- [4] 刘薇薇,陈嘉榆,杨志前,等. 慢性铅接触者胸腺输出近期功能的研究[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2007,25(2):100-102.
- [5] 李东阳,贺性鹏,谢红卫,等. 长期接触铅烟工人免疫球蛋白和某些微量元素含量的变化[J]. 中国职业医学,2003,30(5):18-20.
- [6] 闵秀全,张红艳. 血铅水平对婴幼儿免疫功能的影响[J]. 山东医药,2007,47(17):65-66.
- [7] 孙 鹏,赵正言,李 荣,等. 环境铅暴露对学龄前儿童免疫系统的影响[J]. 环境与健康杂志,2002,19(2):99-101.
- [8] 孙 鹏,赵正言,李 荣,等. 铅暴露对学龄前两性儿童免疫系统的影响[J]. 现代预防医学,2003,30(1):8-9.

(收稿日期:2013-06-08;修回日期:2013-08-25)

(本文编辑:潘雪飞)

(上接第 593 页)

P53 基因是人类肿瘤最重要抑癌因子之一。研究发现 P53 基因突变与肿瘤向恶性转变关系密切,可作为判断临床分期及预后的重要指标之一^[8-9]。本研究中,PA 组织中 P53 阳性表达率为 43.8%,而 SACC 中 P53 的阳性表达率为 68.7%,差异显著 ($P < 0.05$)。SACC 中有淋巴结转移的 P53 表达率高于无淋巴结转移,且晚期高于早期,说明 P53 的表达率与 SACC 发展及转移关系密切^[10]。

本研究显示 SG、PA、SACC 三组中的 P53 和 VEGF 的阳性表达率及 MVD 计数依次增加。SACC 组中,P53 表达水平与 MVD 值呈显著正相关 (r 为 0.55)。P53 表达水平和 MVD 值也随着 VEGF 表达程度的增高而增加。这些结果一方面说明 VEGF 是促进涎腺肿瘤血管生成的主要因素,另一方面也提示 P53 可能通过 VEGF 调节肿瘤新生血管形成。临床上 SACC 的发生、发展、转移及预后可能与血管生成密切相关;通过抑制血管生成,可能会给 SACC 的治疗提供一个新的方向。

【参考文献】

- [1] Weidner N. Intratumor or microvessel density as a prognostic factor in cancer [J]. Am J Pathol, 1995, 147 (1): 9-19.
- [2] Kwee RM, Kwee TC. Imaging in local staging of gastric cancer;

asystematic review [J]. J Clin Oncol, 2007, 25 (15): 2107-2116.

- [3] Majchrzak K, Kaspera W, Szyma J, et al. Markers of angiogenesis (CD31, CD34, rCBV) and their prognostic value in low-grade gliomas [J]. Neurol Neurochir Pol, 2013, 47 (4): 325-331.
- [4] 李晓光,于肖鹏,卢会青,等. VEGF 表达在涎腺腺样囊性癌中的意义 [J]. 口腔医学研究, 2011, 27 (6): 501-503.
- [5] 赵海滨,张伟杰,周志华. MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 在胃癌中的表达及其临床意义 [J]. 东南国防医药, 2010, 12 (3): 197-199.
- [6] 李晶晶,李国利. VEGF、p53 在精原细胞瘤中的表达及相关性分析 [J]. 东南国防医药, 2013, 15 (3): 262-264.
- [7] Demasi AP, Silva CA, Silva AD, et al. Expression of the vascular endothelial growth factor and angiopoietins in mucoepidermoid carcinoma of salivary gland [J]. Head Neck Pathol, 2012, 6 (1): 10-15.
- [8] Golmohammadi R, Namazi MJ, Nikbakht MH, et al. Characterization and prognostic value of mutations in exons 5 and 6 of the p53 gene in patients with colorectal cancers in central iran [J]. Gut Liver, 2013, 7 (3): 295-302.
- [9] Piantino CB, Reis ST, Viana NI, et al. Prima-1 induces apoptosis in bladder cancer cell lines by activating p53 [J]. Clinics, 2013, 68 (3): 297-303.
- [10] 刘 蔚,陈林林,刘 勇. 涎腺肿瘤中 P53 蛋白、血管内皮生长因子及微血管密度的表达及意义 [J]. 实用口腔医学杂志, 2009, 25 (1): 66-70.

(收稿日期:2013-06-18;修回日期:2013-09-17)

(本文编辑:张仲书; 英文编辑:王建东)